枯草芽孢杆菌与锰协同对5～11周龄五龙鹅血清生化指标、抗氧化能力及胫骨发育的影响[1]

葛文华 刁翠萍 任 民 王宝维* 张名爱 岳 斌 郑惠文 张洋洋

（青岛农业大学优质水禽研究所，国家水禽产业技术体系营养与饲料功能研究室，青岛 266109)

摘 要：本试验旨在研究枯草芽孢杆菌与锰协同对5～11周龄五龙鹅血清生化指标、抗氧化能力及胫骨发育的作用，以探索在肉鹅饲粮中添加枯草芽孢杆菌对锰需要量的影响。试验选用5周龄五龙鹅360只，随机分为6组，每组6个重复，每个重复10只（公母各占1/2）。Ⅰ组饲粮锰添加水平为105 mg/kg，未添加枯草芽孢杆菌；Ⅱ～Ⅵ组饲粮枯草芽孢杆菌添加水平均为250 g/t，锰添加水平分别为0、35、70、105、170 mg/kg。试验期7周。结果表明：1）Ⅱ～Ⅵ组血清碱性磷酸酶（AKP）活性及甘油三酯（TG）、总胆固醇（CHOL）含量均随饲粮锰添加水平的增加呈现先升高后降低趋势，各组间差异不显著（P>0.05），均以Ⅳ组最高。2）Ⅱ～Ⅵ组血清总抗氧化能力（T-AOC）和谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）活性均随饲粮锰添加水平的增加呈现先升高后降低趋势，Ⅳ组显著高于Ⅰ组（P<0.05），极显著高于Ⅱ组（P<0.01）；Ⅱ～Ⅵ组血清丙二醛（MDA）含量随饲粮锰添加水平的增加呈现先降低后升高趋势，Ⅳ组极显著低于Ⅱ组（P<0.01）。3）Ⅱ～Ⅵ组骨密度、骨强度、胫骨重和胫骨灰分含量均随饲粮锰添加水平的增加呈现先升高后降低趋势，Ⅳ组骨密度、骨强度、胫骨重和胫骨钙含量均显著或极显著高于Ⅰ组（P<0.05或P<0.01）；Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ组胫骨锰含量均显著或极显著低于Ⅰ组（P<0.05或P<0.01）。由此可见，饲粮中添加枯草芽孢杆菌能够提高锰生物学效应，进一步提高机体营养同化作用，增强机体抗氧化能力，促进胫骨发育，降低胫骨锰含量；建议在5~11周龄五龙鹅饲粮中添加250 g/t枯草芽孢杆菌条件下，锰适宜添加水平为70 mg/kg。

关键词：枯草芽孢杆菌；五龙鹅；锰；血清生化指标；胫骨发育；抗氧化能力

中图分类号：S835 文献标识码： 文章编号：

锰具有重要的营养生理作用，在碳水化合物、脂类、蛋白质和胆固醇代谢中作为酶的活化因子或组成部分。锰具有促进生长和增强免疫的作用，家禽机体内氧化还原过程、组织呼吸、骨骼的形成与增长、繁殖、胚胎发育、血液的形成、蛋壳形成及内分泌器官的正常功能均离不开锰[1]，在家禽营养中具有不可替代的重要作用。锰缺乏容易引起营养缺乏病。与家畜相比，家禽对锰的需要量要高一些。在家禽饲粮中，玉米中锰含量少，且家禽

收稿日期：2017-02-07

基金项目：国家水禽产业技术体系专项基金(CARS-43-11)；山东省良种工程（12-1-3-17-nsh）

作者简介：葛文华(1961-)，女，山东莱州人，高级工程师，研究方向为家禽营养与保健。E-mail: E-mail: wangbw1959@qq.com

*通信作者：王宝维，教授，硕士生导师，E-mail: wangbw@qau.edu.cn

肠道对锰的吸收率较低，因此家禽更容易发生锰缺乏症[2]。研究家禽锰的需要量对养禽业具有重要意义。张日俊[3]、吴建设[4]研究表明，不同水平的锰影响免疫器官抗氧化酶的活性和脂质过氧化物的生成。罗绪刚等[5]对肉仔鸡试验表明，饲粮添加锰的试验组血清总胆固醇（CHOL）含量显著高于对照组，表明锰缺乏使胆固醇的合成作用降低。有机微量元素在吸收过程中可能在吸收后的代谢不同于其无机盐，具有较高的生物利用率[6]。Ferket 等[7]研究表明，饲粮中添加羟基蛋氨酸螯合锰能够降低火鸡胫骨软骨发育异常症、跛足，增加骨骼破裂强度。另外，国内外对于微生态制剂的研究已有很多，研究发现，乳酸杆菌产生一种抗细菌物质，可以抑制肠道内菌群的腐败产物，改善肠道环境，从而增进健康，延长寿命[8]。余东游等[9]研究表明，饲粮中添加适量的枯草芽孢杆菌显著提高了肉鸡胸腺指数和法氏囊指数，对肉鸡免疫性能具有重要影响。Selvam 等[10]研究表明，枯草芽孢杆菌分泌的表面活性剂能抑制炎症反应的关键酶——磷脂酶 A2，进而改善结肠炎的炎症反应等。枯草芽孢杆菌作为微生态制剂的一种，可以有效地改善肠道菌群的组成，促进机体对营养物质的吸收。López 等[11]研究指出，芽孢杆菌属菌株具有强大的吸附金属能力，这是因为金属离子能够与该菌细胞表面上的阴离子相互作用而被固定。Jayaraman 等[12]研究发现，枯草芽孢杆菌能够抑制由产气荚膜梭菌引起的肉仔鸡坏死性肠炎，提高肉仔鸡的肠道健康水平。迄今为止，关于微量元素锰及枯草芽孢杆菌对家禽影响效果与作用机制的研究较多，而饲粮中添加枯草芽孢杆菌对家禽微量元素消化吸收的影响与干预机制研究报道较少，枯草芽孢杆菌与锰协同对机体抗氧化能力的影响研究还处于空白，对鹅胫骨发育的影响也未见报道。因此，本试验以 5～11 周龄五龙鹅（豁眼鹅）为研究对象，通过研究不同锰水平饲粮添加枯草芽孢杆菌对其血清生化指标、抗氧化能力及胫骨发育的影响，探索家禽饲粮中锰最低添加水平的方法，为低排放生态营养技术提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试验动物与试验设计

试验选择 5 周龄健康且体重大小基本一致的五龙鹅 360 只，随机分为 6 组，每组 6 个重复，每个重复 10 只（公母各占 1/2）。Ⅰ组饲粮锰添加水平为 105 mg/kg[13]，未添加枯草芽孢杆菌；Ⅱ～Ⅵ组为枯草芽孢杆菌添加组，饲粮锰添加水平分别为 0、35、70、105、170 mg/kg，枯草芽孢杆菌添加水平均为 250 g/t。试验期 7 周。试验鹅由青岛农业大学优质水禽研究所育种基地提供。试验用的含 1 个结晶水的硫酸锰购自浙江新维普添加剂有限公司(有效成分为 98%)。

1.2 试验饲粮

基础饲粮营养水平参照 NRC（1994）家禽营养需要量设计。基础饲粮组成及营养水平见表 1。采用等离子体发射光谱仪测得基础饲粮中锰含量为 20 mg/kg。

表 1 基础饲粮组成及营养水平（风干基础）

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis) %

原料 Ingredients	含量 Content	营养水平 Nutrient levels[2]	含量 Content
玉米 Corn	61.97	代谢能 ME/（MJ/kg）	11.29
豆粕 Soybean meal	22.00	粗蛋白质 CP	16.00
鱼粉 Fish meal	1.50	粗纤维 CF	4.98
次粉 Wheat middling	4.00	钙 Ca	0.70
玉米秸秆 Corn straw	8.00	有效磷 AP	0.32
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	0.78	食盐 NaCl	0.38
石粉 Limestone	0.95	赖氨酸 Lys	0.82
食盐 NaCl	0.30	蛋氨酸+半胱氨酸 Met+Cys	0.53
微量元素 Trace elements[1]	0.20	蛋氨酸 Met	0.26
多维 Multivitamin[1]	0.30	苏氨酸 Thr	0.58
合计 Total	100.00	锰 Mn/（mg/kg）	20.00

1) 多维和微量元素为每千克饲粮提供 The multivitamin and trace elements provided the following per kg of the diet：VA 1 500 mg，VD_3 200 IU，VE 12.5 mg，VK_3 1.5 mg，VB_1 2.2 mg，VB_2 5.0 mg，烟酸 nicotinic acid 65 mg，泛酸 pantothenate 15 mg，VB_6 2 mg，生物素 biotin 0.2 mg，叶酸 folic acid 0.5 mg，胆碱 choline 1 000 mg，Fe 85 mg，Zn 80 mg，I 0.42 mg，Se 0.3 mg，Co 2.5 mg。

2) 锰为实测值，其他营养水平为计算值。Mn was a measured value, while the other nutrient levels were calculated values.

1.3 饲养管理

试验前对鹅舍进行全面消毒；全期采取舍饲，地面厚垫料分栏饲养；试验鹅自由饮水和采食；少添喂勤；注意观察鹅群的生长状况。

1.4 测定指标及方法

1.4.1 血清生化指标测定

11 周龄末，从每个重复中随机取 2 只鹅，共 72 只(公母各占 1/2)，翅下静脉采血 5 mL，3 000 r/min 离心 10 min，取上清液。采用碱性磷酸酶（AKP）测定试剂盒测定血清中 AKP 的活性；采用甘油三酯（TG）测定试剂盒测定血清中 TG 含量；采用 CHOL 测定试剂盒测定血清中 CHOL 含量。所用试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.4.2 抗氧化能力测定

对 1.4.1 中采集的血清，采用总抗氧化能力(T-AOC)测定试剂盒测定血清中的 T-AOC，采用丙二醛(MDA)测定试剂盒测定血清中的 MDA 含量，采用谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)测定试剂盒测定血清中 GSH-Px 活性。所用试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.4.3 胫骨发育测定

11 周龄末，分别从每个重复中随机抽取 2 只试验鹅，共 72 只(公母各占 1/2)，屠宰后分离左、右胫骨。右侧胫骨采用数字闪烁式锥形扫描骨密度仪(osteocore 3)测定骨密度(bone

mineral density，BMD)，采用 WD－1 型电子万能试验机测定骨强度，然后 105 ℃烘干后称重胫骨重量，再依据 GB/T 6438—92、高锰酸钾（$KMnO_4$）氧化还原测定法(GB 6436—86)、钼黄比色法(GB 6437—86)和原子吸收法分别测定胫骨中粗灰分、钙、磷、锰含量。

1.5　统计分析

采用 SPSS 17.0 软件中单因素方差分析(one-way ANOVA)中的 LSD 法进行多重比较。试验数据以“平均值±标准差”表示。用不相关比较法(Orthogonal)分析各指标随饲粮中锰添加水平的线性或曲线反应，采用曲线拟合法，以确定 5～11 周龄鹅饲粮中锰的适宜添加水平。$P<0.05$ 和 $P<0.01$ 分别为差异显著和极显著水平。

2 结果与分析

2.1 枯草芽孢杆菌与锰协同对五龙鹅血清生化指标的影响

由表 2 可知，Ⅱ～Ⅵ组血清 AKP 活性及 TG、CHOL 含量均随饲粮锰添加水平的增加呈现先升高后降低趋势，但各组间差异不显著（$P>0.05$），均以Ⅳ组最高。

以上结果表明，饲粮添加枯草芽孢杆菌在一定程度上能够增强锰的生物学效应，提高机体营养同化作用，从而降低饲粮中锰添加水平。

表 2 枯草芽孢杆菌与锰协同对五龙鹅血清生化指标的影响

Table 2 Effects of *Bacillus subtilis* cooperate with manganese on serum biochemical indices of *Wulong* geese

组别 Groups	碱性磷酸酶 AKP/（U/L）	甘油三酯 TG/（mmol/L）	总胆固醇 CHOL/（mmol/L）
Ⅰ	176.18±1.11	1.44±0.02	13.46±0.13
Ⅱ	173.38±1.43	1.43±0.02	13.35±0.16
Ⅲ	176.83±2.28	1.45±0.02	13.48±0.09
Ⅳ	179.13±1.27	1.46±0.03	13.62±0.04
Ⅴ	178.96±2.16	1.45±0.02	13.54±0.05
Ⅵ	178.34±1.98	1.45±0.01	13.41±0.11
P-值 *P*-value	0.382	0.432	0.402

同列数据肩标相同小写字母或无字母表示差异不显著($P>0.05$)，相邻小写字母表示差异显著($P<0.05$)，相间小写字母表示差异极显著($P<0.01$)。下表同。

In the same column, values with the same small or no letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$), while with adjacent small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$), and with alternate small letter superscripts mean significant difference ($P<0.01$). The same as below.

2.2 枯草芽孢杆菌与锰协同对五龙鹅血清抗氧化能力的影响

由表 3 可知，Ⅱ～Ⅵ组血清 T-AOC 和 GSH-Px 活性均随饲粮锰添加水平的增加呈现先升高后降低趋势，Ⅳ组显著高于Ⅰ组（$P<0.05$），极显著高于Ⅱ组（$P<0.01$）；Ⅱ～Ⅵ组血清 MDA 含量随饲粮锰添加水平的增加呈现先降低后升高趋势，Ⅳ组极显著低于Ⅱ组（$P<0.01$）。

以上结果表明，在饲粮中枯草芽孢杆菌添加水平为 250 g/t 时，锰添加水平为 70 mg/kg 能极显著提高鹅血清中 T-AOC 和 GSH-Px 活性，极显著降低 MDA 含量。由此可以看出，饲粮中添加锰对鹅抗氧化能力有显著影响，而添加枯草芽孢杆菌能够进一步增强锰的抗氧化能力，减少了机体对外源锰的需要量。

通过二次曲线率拟合和回归方程分析发现，抗氧化能力指标与饲粮中锰添加水平之间的曲线拟合不具有显著性（P>0.05）。

表 3 枯草芽孢杆菌与锰协同对五龙鹅抗氧化能力的影响

Table 3 Effects of *Bacillus subtilis* cooperate with manganese on antioxidant activity of *Wulong* geese

组别 Groups	总抗氧化能力 T-AOC/（U/mL）	丙二醛含量 MDA/（nmol/mL）	谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-Px/(U/mL)
I	10.47±0.39^{ab}	9.11±0.62^{ab}	276.20±12.48^{ab}
II	9.41±0.27^{a}	10.97±0.46^{c}	267.42±7.28^{a}
III	10.16±0.38^{ab}	9.91±0.62^{bc}	285.19±10.22^{abc}
Ⅳ	12.49±0.47^{c}	8.53±0.21^{a}	302.27±12.06^{c}
V	11.16±0.41^{b}	9.24±0.52^{ab}	300.54±9.51^{c}
Ⅵ	10.25±0.91^{ab}	9.42±0.71^{ab}	299.72±8.657^{bc}
P-值 P-value	0.008	0.037	0.042

2.3 枯草芽孢杆菌与锰协同对五龙鹅胫骨发育的影响

由表 4 可知，Ⅱ～Ⅵ组骨密度、骨强度、胫骨重和胫骨灰分含量均随饲粮锰添加水平的增加呈现先升高后降低趋势，Ⅳ组骨密度、骨强度、胫骨重和胫骨钙含量均显著或极显著高于Ⅰ组（P<0.05 或 P<0.01）；Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ组胫骨锰含量均显著或极显著低于Ⅰ组（P<0.05 或 P<0.01）。

以上结果表明，在饲粮中枯草芽孢杆菌添加水平为 250 g/t 时，锰添加水平为 70 mg/kg 能够使鹅胫骨得到良好发育，饲粮中添加枯草芽孢杆菌能够降低胫骨锰含量。

通过二次曲线率拟合和回归方程分析发现，胫骨发育指标与饲粮中锰添加水平之间的曲线拟合不具有显著性（P>0.05）。

表 4 枯草芽孢杆菌与锰协同对五龙鹅胫骨发育的影响

Table 4 Effects of *Bacillus subtilis* cooperate with manganese on tibia development of *Wulong* geese

组别 Groups	骨密度 BMD/ （g/cm^2)	骨强度 Bone strength/(kg/m m）	胫骨重 Tibia weight/g	胫骨灰分含量 Tibia ash content/％	胫骨钙含量 Tibia Ca content/ （μm/g）	胫骨锰含量 Tibia Mn content/ （μm/g）
I	0.29±0.02^{ab}	19.24±1.86^{a}	25.43±1.26^{ab}	34.56±1.77^{abc}	27.31±0.22^{ab}	7.03±0.32^{d}
II	0.26±0.03^{a}	17.71±1.23^{a}	24.17±1.28^{a}	32.59±1.32^{a}	26.35±0.47^{a}	4.36±0.58^{a}
III	0.29±0.02^{ab}	19.52±1.41^{ab}	25.96±1.83^{abc}	34.33±1.54^{ab}	27.52±0.33^{ab}	4.54±0.57^{ab}

Ⅳ	0.32±0.02c	22.89±1.36c	29.53±1.96d	38.77±1.21c	28.63±0.49c	5.22±0.42b
Ⅴ	0.31±0.02bc	22.69±1.31c	28.92±1.46cd	37.34±1.22bc	27.84±0.43bc	5.67±0.89bc
Ⅵ	0.29±0.01abc	22.31±1.25bc	28.19±1.73bcd	34.76±1.62bc	29.56±0.72abc	6.38±0.46cd
P-值 *P*-value	0.029	0.007	0.021	0.052	0.042	0.000

3 讨 论

3.1 枯草芽孢杆菌与锰协同对鹅血清生化指标的影响

TG 与动物生长发育及免疫系统有关，其含量变化反映了体内膜类代谢情况。罗绪刚等[5]研究表明，机体为了弥补缺锰时血液胆固醇含量的下降而自动调节脂蛋白的分解，而来自被分解脂蛋白的 TG 使得血浆中的 TG 含量得以提高。胆固醇是细胞膜成分，血液中的胆固醇一部分到组织中构成细胞结构成分；另一部分转变为重要的固醇衍生物维生素 D_3，促进钙的吸收或类固醇激素代谢。丁保安等[14]研究表明，体外肝细胞培养时锰能促进 ^{14}C 标记的乙酸合成胆固醇，锰是甲羟戊酸激酶的辅助因子，锰缺乏使甲羟戊酸激酶活性受到抑制，从乙酸盐到甲羟戊酸之间有 2 部位需要锰离子(Mn^{2+})；焦磷酸合成酶需要 Mn^{2+}，焦磷酸酯合成受阻会抑制鲨烯的产生而使胆固醇合成受阻。缺锰时，胆固醇及其前体合成受阻，从而引起性激素合成障碍。Curran 等[15]研究表明，锰能刺激胆固醇的合成，可提高大鼠肝脏内胆固醇的生成量。本试验结果表明，随饲粮锰添加水平升高，血清 AKP 活性及 TG、CHOL 含量呈现先升高后降低的趋势，在饲粮中枯草芽孢杆菌添加水平为 250 g/t 时，锰添加水平为 70 mg/kg 时血清 AKP 活性及 TG、CHOL 含量最高，这表明添加枯草芽孢杆菌能够增强锰的生物学效应，提高机体营养同化作用，从而降低饲粮中锰添加水平。

3.2 枯草芽孢杆菌与锰协同对鹅抗氧化能力的影响

锰是超氧化物歧化酶(SOD)活性组成成分，同时也会影响组织非酶抗氧化蛋白的生成。动物锰的营养状况影响机体组织的抗氧化状况[16]。家禽代谢旺盛，易产生很多自由基，尤其是在规模化养殖条件下，易受各种不良环境的应激影响，因而更易使体内自由基的平衡状态受到破坏，对疫病的易感性增加。因此，与哺乳动物相比，肉鸭需要更为强大的抗氧化体系来清除体内易过多积累的自由基，以维持体内自由基的稳定和平衡，从而维持其健康和正常生长。其中锰与家禽的抗氧化能力有密切关系，锰的供给有特殊的重要性[17]。

T-AOC 是用于衡量机体抗氧化系统功能状况的综合性指标，体现了体内多种抗氧化酶共同作用的效果，T-AOC 的高低可以直接反映出机体面对外来刺激时抗氧化酶系统和非酶系统的应对能力[18]。MDA 是体内脂质过氧化反应的产物，主要由体内酶系统与非酶系统产生的自由基与细胞膜上的不饱和脂肪酸共同反应产生，可直接反映机体内氧化自由基的水平以及细胞被攻击损伤的程度。GSH-Px 是机体内广泛存在的一种重要的过氧化物分解酶，是机体抗过氧化能力指标之一[19]。本试验结果表明，在饲粮中枯草芽孢杆菌添加水平为 250 g/t 时，锰添加水平为 70 mg/kg 能极显著提高鹅血清 T-AOC 和 GSH-Px 活性，极显

著降低血清 MDA 含量，比 I 组（锰添加水平为 105 mg/kg，未添加枯草芽孢杆菌）更具优势；与上述报道结果一致。这表明，5～11 周龄鹅饲粮中添加枯草芽孢杆菌能够进一步增强锰的抗氧化能力，从而减少机体对外源锰的需要量。

3.3 枯草芽孢杆菌与锰协同对鹅胫骨发育的影响

锰是与畜禽骨骼生长密切相关的微量元素之一，家禽饲粮中锰缺乏时骨骼组织形成紊乱，常发生软腿病。骨中锰含量是评价锰生物学效价最敏感的指标。Ferket 等[7]研究表明，火鸡饲粮中添加羟基蛋氨酸螯合锰能够降低胫骨软骨发育异常症、跛足以及增加骨骼破裂强度。陈仲建等[20]试验表明，在肉用雏鸡豆粕基础饲粮中分别添加 40、70、100、200 和 2000 mg/kg 的锰，饲粮锰添加水平在 200 mg/kg 以内各组的增重和饲料转化率无显著差异，但滑腱症的发生率随饲粮锰添加水平的提高而下降。有资料报道，以玉米-豆粕为基础饲粮的肉鸡在 3 周时，腿病发生率为 75.0%；饲粮锰添加水平为 25 mg/kg 时，腿病发生率可降低到 27.2%；而饲粮锰添加水平为 100 mg/kg 时，腿病发生率仅为 5.0%[21]，从而可证实玉米、豆粕中锰含量远低于肉鸡的营养需要量，由于饲粮中锰含量不足，使机体中锰缺乏，影响了骨骼中软骨的基质合成，使机体组织内的己糖胺和己糖醛酸的含量下降，从而影响硫酸软骨素的合成，使黏多糖合成受阻，从而发生骨骼病变，临床上表现为关节肿大和脱腱症。本试验结果表明，饲粮中枯草芽孢杆菌添加水平为 250 g/t 时，锰添加水平为 70 mg/kg 时胫骨得到良好发育，并能够降低胫骨锰含量。添加枯草芽孢杆菌能够降低胫骨中锰含量的机理还有待于进一步研究。

4　结 论

①饲粮中添加枯草芽孢杆菌能够提高锰对机体的生物学效应，进一步提高机体营养同化作用，降低饲粮中锰添加水平。

②适宜锰水平饲粮添加枯草芽孢杆菌能够进一步提高鹅血清中T-AOC和GSH-Px活性，降低血清MDA含量，提高机体抗氧化能力。

③适宜锰水平饲粮添加枯草芽孢杆菌能够进一步促进胫骨发育，降低胫骨锰含量。

④建议5～11周龄五龙鹅饲粮中添加枯草芽孢杆菌水平为250 g/t时，锰适宜添加水平为70 mg/kg。

参考文献：

[1] 井明艳,孙建义,许梓荣.锰的生物学功能及有机态锰的应用研究[J].饲料博览,2004(1):7–9.

[2] 王宝维.中国鹅业[M].济南:山东科学技术出版社,2009:374–681.

[3] 张日俊.微量元素锌、锰对肉鸡免疫功能的影响及其机理研究[D].博士学位论文.北京:中国农业大学,1996.

[4] 吴建设.微量元素铜、铁对肉鸡免疫功能的影响及其机理研究[D].博士学位论文.北京:中国农业大学,1996.

[5] 罗绪刚,苏琪,黄俊纯,等.实用饲粮中锰的添加水平对肉用仔鸡组织中其他矿物元素浓度的影响[J].动物营养学报,1991,3(1):17–20.

[6] MILLER N J,RICE-EVANS C,DAVIES M J,et al.A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates[J].Clinical Science,1993,84(4):407–412.

[7] FERKET P R,OVIEDO-RONDÓN E O,MENTE P L,et al.Organic trace minerals and 25-hydroxycholecalciferol affect performance characteritics,leg abnormalities,and biomechanical properties of leg bones of turkeys[J].Poultry Science,2008,88(6):118–131.

[8] 欧阳翰夫.微量元素过量对动物的影响及预防[J].中国饲料,1999(15):28–29.

[9] 余东游,毛翔飞,秦艳,等.枯草芽孢杆菌对肉鸡生长性能及其抗氧化和免疫功能的影响[J].营养饲料,2010,46(3):22–25.

[10] SELVAM R,MAHESWARI P,KAVITHA P,et al.Effect of Bacillus subtil-is PB6,a natural probiotic on colon mucosal inflammation and plasma cytokines levels in inflammatory bowel disease[J].Indian Journal of Biochemistry & Biophysic,2008,46(1):79–85.

[11] LÓPEZ A,LÁZARO N,MORALES S,et al.Nickel biosorption by free and immobilized cells of *Pseudomonas fluorescens* 4F39:a comparative study[J].Water, Air and Soil Pollution,2002,135(1):157–172.

[12] JAYARAMAN S,THANGAVEL G,KURIAN H,et al.*Bacillus subtilis* PB6 improves intestinal health of broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens*-induced necrotic enteritis[J].Poultry Science,2013,92(2):370–374.

[13] 张雪君,王宝维,葛文华,等.锰对 5～16 周龄五龙鹅生长性能、屠宰性能、营养物质利用率及酶活性的影响[J].动物营养学报,2014,26(1):106–114.

[14] 丁保安,呙于明,罗旭刚.蛋鸡锰营养研究进展[J].四川畜牧兽医,1999,26(9):21–22.

[15] CURRAN G L,AZARNOFF D L.Effect of certain transition elements on cholesterol biosynthesis[J].Federation Proceedings,1961,20(3):109–111.

[16] LEE M,HYUN D H,MARSHALL K A,et al.Effect of over expression of Bcl-2 on cellular oxidative damage,nitric oxide production,antioxidant defenses,and the proteasom[J].Free Radical Biology and Medicine,2001,31(12):1550–1559.

[17] 罗绪刚,苏琪,黄俊纯,等.肉仔鸡实用饲粮中锰的适宜水平的研究[J].畜牧兽医学报,1991,22(4):313–317.

[18] 张金龙,徐丽丽,李艳飞.雏鸡脑软化症免疫组织的氧化和抗氧化特性[J].中国畜牧兽医,2007,34(2):42–44.

[19] 张洪斌.谷胱甘肽和维生素 E、C 与自由基[J].新疆师范大学学报:自然科学版,1999,18(3):73–77.

[20]陈仲建,吕林,罗绪刚,等.不同锰源对肉仔鸡生长性能、胴体性能和血清生化指标的影响[J].中国畜牧杂志,2010,46(13):35–38,71.

[21] 沈同,王镜岩,赵邦悌,等.生物化学[M].北京:高等教育出版社,1991:151–167.

Effects of *Bacillus subtilis* Cooperate with Manganese on Serum Biochemical Indices, Antioxidant Activity and Tibia Development of *Wulong* Geese Aged from 5 to 11 Weeks

GE Wenhua DIAO Cuiping REN Min WANG Baowei* ZHANG Ming' ai YUE Bin ZHENG Huiwen ZHANG Yangyang

(*Nutrition and Feed Laboratory of China Agriculture Research System, Institute of High Quality Waterfowl, Qingdao Agricultural University, Qingdao* 266109*, China)*

Abstract: This experiment was conducted to study the effects of *Bacillus subtilis* cooperate with manganese on serum biochemical indices, antioxidant activity and tibia development of *Wulong* geese aged from 5 to 11 weeks, and to investigate the requirement of manganese when diet supplemented *Bacillus subtilis* of geese. A total of 360 five-week-old *Wulong* geese were randomly divided into 6 groups with 6 replicates per group and 10 geese per replicate (half male and half female). Geese in group Ⅰ were fed a diet supplemented with 105 mg/kg manganese and without *Bacillus subtilis*; whereas the geese in groups Ⅱ to Ⅵ were fed diets all supplemented with 250 g/t *Bacillus subtilis*, and supplemented with 0, 35, 70, 105 and 170 mg/kg manganese, respectively. The experiment lasted for 7 weeks. The results showed as follows: 1) the serum alkaline phosphatase (AKP) activity and the contents of triglyceride (TG) and total cholesterol (CHOL) in groups Ⅱ to Ⅵ were showed a firstly increased then decreased tendency with dietary manganese supplemental level increased, and no significant differences were found among all groups (P>0.05), the highest values were in the group Ⅳ. 2) The serum total antioxidant capacity (T-AOC) and glutathione peroxidase (GSH-Px) activity in groups Ⅱ to Ⅵ were showed a firstly increased then decreased tendency with dietary manganese supplemental level increased, the serum T-AOC and GSH-Px activity in group Ⅳ were significantly higher than those in group Ⅰ（P<0.05）, and significantly higher than those in group Ⅱ （P<0.01）. The serum malondialdehyde (MDA) content in groups Ⅱ to Ⅵ were showed a firstly decreased then

increased tendency with dietary manganese supplemental level increased, the serum MDA content in group Ⅳ was significantly lower than that in group Ⅱ （P<0.01）. 3) The bone mineral density, bone strength, tibia weight and tibia ash content in groups Ⅱ to Ⅵ were showed a firstly increased then decreased tendency with dietary manganese supplemental level increased, the bone mineral density, bone strength, tibia weight and tibia calcium content in group Ⅳ were significantly higher than those in group Ⅰ （P<0.05 or P<0.01）, the tibia manganese content in groups Ⅱ, Ⅲ, Ⅳ and Ⅴ was significantly lower than that in group Ⅰ （P<0.05 or P<0.01）. In conclusion, adding *Bacillus subtilis* into the diet can improve the biological effects of manganese, improve the body's nutritional assimilation, promote antioxidant activity and tibia development, and reduce tibia manganese content. The optimal supplemental level of manganese was 70 mg/kg when dietary supplemented 250 g/t *Bacillus subtilis* of *Wulong* geese aged from 5 to 11 weeks.

Key words: *Bacillus subtilis*; *Wulong* geese; manganese; serum biochemical indices; tibia development; antioxidant activity

---

*Corresponding author, professor, E-mail: wangbw@qau.edu.cn （责任编辑 武海龙）